



## بررسی تنوع چندقلوزایی در چهار جمعیت گوسفندان متعلق به عشاير ایران با استفاده از اطلاعات توام فنوتیپی، نشانگرهای DNA و سیستم اطلاعات جغرافیایی

لیلا علی تالش<sup>۱</sup>، آرش جوانمرد<sup>۲</sup>، مصطفی مدد<sup>۳</sup>، نوبد قوی حسین زاده<sup>۴\*</sup>، محمود رضا شبانی مفرد<sup>۵</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، مجتمع علوم کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران
- ۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه تبریز
- ۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تبریز، ایران
- ۴- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
- ۵- دانشجوی دکتری گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی پوتو، سردارگ، مالزی

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۱)

### چکیده

هدف تحقیق حاضر، تجزیه و تحلیل تنوع صفت دوقلوzaایی گوسفند پرورش یافته در سیستم مرتعی بهوسیله عشاير بر اساس فنوتیپ مستقیم، نشانگرهای DNA توام با نمایش در سیستم اطلاعات جغرافیایی (GIS) می‌باشد. به این منظور، از چهار نژاد گوسفند پرورش یافته بهوسیله عشاير در سیستم مرتعی، مجموعاً ۹۷ میش بالغ (افشاری=۱۹، بلوچی=۱۸، ماکویی=۳۰ و مهرaban=۳۰) برای ارزیابی تنوع ژنتیکی باروری با استفاده از اطلاعات فنوتیپی، آنالیز اطلاعات DNA و سیستم اطلاعات جغرافیایی PCR-RFLP DIVA-GIS جمع‌آوری شد. در مورد اطلاعات ژن‌های کاندیدا، چندشکلی دو ژن GDF9 و BMP15 با استفاده از PCR-RFLP DIVA-GIS تحت تاثیر ژنوتیپ هر ژن کاندیدا در این مطالعه قرار می‌گیرد. نتایج جالب بدست آمده نشان داد که چندقلوزایی به طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) نتایج بدست آمده از فنوتیپ و ژنوتیپ در مقیاس نقشه قرار گرفت. نتایج جالب بدست آمده نشان داد که هتروزیگوت برای هر دو جایگاه ژنی، چندقلوزایی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های هموزیگوت نشان دادند ( $P < 0.01$ ). طبق نتایج سیستم GIS، مناطقی که در شمال غرب ایران قرار گرفته‌اند تنوع بالاتر دوقلوzaایی را نشان دادند. شاید بتوان از این نتایج، در سیاست‌گذاری‌های ملی حفظ ذخائر ژنتیکی گوسفندان بومی ایران و شناسایی پتانسیل‌های موجود گوسفندان پرورش داده شده در سیستم باز مرتعی بهوسیله عشاير کشور بهره برد.

**واژه‌های کلیدی:** تنوع ژنتیکی، چندقلوزایی، سیستم اطلاعات جغرافیایی، گوسفند دنبه‌دار، نشانگر DNA

## مقدمه

گونه‌ای و فراوانی نسبی گونه‌ها استوار بوده و اعداد بزرگتر تنوع بیشتر جامعه را نشان می دهدن (Booth *et al.*, 2003). برنامه کامپیوتري DIVA-GIS برای تجزيه و تحليل نحوه توزيع موجودات، در مقیاس مناسب جغرافیایی و اکولوژیکی استفاده می شود (Hijmans *et al.*, 2001b). کاربردهای تحليلي DIVA-GIS نقشه‌برداری از فنوتیپ و تنوع ژنتیکی (بر اساس داده‌های نشانگرهای مولکولی DNA)، نقشه توزيع صفات بخصوص و تشخیص مناطقی با تنوع مکمل را شامل می شود (Hijmans *et al.*, 2001b).

داده‌های نشانگرهای مولکولی مرتبط با موقعیت‌های واقعی نمونه و بسیاری از موارد دیگر همچون فواصل مولکولی، تنوع MOLCOLI و تعداد هاپلوتاپ‌ها را می‌توان در DIVA-GIS آنالیز نمود (Hijmans *et al.*, 2001b). باید توجه داشت که توام کردن این اطلاعات با فنوتیپ واقعی حیوان در محل جغرافیایی نمونه‌برداری شده را می‌توان یک پیش‌نیاز شروع فعالیت‌های اصلاحی برای گوسفندان نیازمند به پرورش در سیستم باز مرتعی دانست و انتظار بر این است که این روش‌ها بتواند کارآیی برنامه‌های اصلاح نژادی را بهبود بخشد. بنابراین، هدف اصلی این مطالعه توصیف تنوع بر اساس GIS و فنوتیپ و نشانگرهای DNA برای شناسایی گوسفند با باروری بالای متعلق به عشاير ایران می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۹۷ راس میش بالغ (افشاری = ۱۹، بلوچی = ۱۸، ماکوبی = ۳۰، مهریان = ۳۰) چندقلوزا و تکقلوزا استفاده شد. این میش‌ها تحت هیچ برنامه تحقیقی برای هورمون درمانی یا همزمانی فحلی قرار نداشتند و مستقیماً از گوسفندان تحت پرورش عشاير جمع‌آوری شدند.

مقدار ۵ میلی‌لیتر نمونه خون از رگ و داج گردن با استفاده از لوله‌های ونجکت حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته و با حفظ آنها در فلاسک حاوی یخ خشک سرد به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها عمدها از میش‌های دوقلوزا و همچنین میش‌هایی که سابقه تکقلوزایی متعدد داشتند بودند. استخراج DNA آنها با کمک کیت اختصاصی NAfast انجام شد. با استفاده از دو روش اسپکتوفوتومتری و الکتروفوز ژل

گزارشات اخیر حاکی از آن است که تنوع ژنتیکی درون بسیاری از نژادهای دامی رایج به طور گسترده‌ای به‌واسیله شدت انتخاب طبیعی و یا برنامه اصلاح نژادی کاهش یافته است. بنابراین حفظ تنوع ژنتیکی حیوانات مخصوصاً زمانی که پیش‌بینی بروز تغییرات در محیط‌های تولیدی در آینده وجود دارد، مهم است (Boettcher *et al.*, 2010). جمعیت گوسفند در ایران عمدتاً از نژادهای دنبه‌دار و پشم ضخیم تشکیل شده است. قابل ذکر است که آمار گذشته نشان می‌دهد که بیش از ۲۸ نژاد متمایز گوسفند در ایران وجود دارد که از نظر اندازه، شکل، تیپ و رنگ متفاوتند (Tavakolian, 2000) از بین این تنوع بالا، چهار نژاد دنبه‌دار چندمنظوره بومی گزارش شده است که شامل افشاری، بلوچی، ماکوبی و مهریان می‌باشند، به طوری که تقریباً سه میلیون گوسفند افشاری و مهریان و پنج میلیون گوسفند ماکوبی وجود دارد. این نژادها از نظر جنسی در کل سال فعال می‌باشند، به طوری که فعالیت فحلی مناسب را در تابستان و پاییز نشان می‌دهند و عموماً تخمک‌گذاری منفرد در آنها مشاهده می‌شود. تحقیقات اخیر محققان کشور نشان داده است که به طور کلی بازدهی کم در کل سیستم‌های تولید گوسفند در ایران عمدتاً به دلیل عملکرد تولیدمثلی پایین در میش معمولی است (Esmailizadeh *et al.*, 2009). عموماً از نظر باروری گوسفند پرورش یافته در سیستم عشاير در مقایسه با گوسفندی که در سیستم‌های فشرده یا نیمه‌فسرده پرورش می‌باشد فعال‌تر می‌باشد (Osman, 1987). تحقیق در جغرافیای زنده و طراحی برنامه‌های حفاظت اغلب بر اساس نقشه جغرافیایی از ابزارهای مناسب برای تصمیم‌گیری‌های مدیریتی و حفاظت ملی و بین المللی گونه‌ها محسوب می‌شود. اگر مشاهدات کافی از تنوع گونه‌ها در مقیاس نقشه جغرافیایی و محل پراکنش در دسترس باشد می‌توان مستقیماً از این اطلاعات و به‌واسیله این ابزارها اطلاعات مفیدی راجع به توزيع جمعیتی و تنوع آنها به دست آورد (Hijmans *et al.*, 2001a). یکی از روش‌های متداول جهت بررسی تنوع جوامع گیاهی و جانوری استفاده از شاخص تنوع شانون می‌باشد. این شاخص بر اساس غنای

جایگاه برشی برای آنزیم HhaI وجود دارد. در جدول ۱ مشخصات کامل توالی آغازگرها، منطقه تکثیر، جهش مشاهده شده و اندازه آلل‌های مشاهده شده در دو زن GDF9 و BMP15 نشان داده شده است.

آگارز، ویژگی‌های کمی و کیفی DNA تعیین شد. آغازگرها در این مقاله بر اساس سایر تحقیقات طراحی شد. با استفاده از این آغازگرها اختصاصی، قطعه‌ای به طول ۴۶۲ جفت باز از اگزون یک زن GDF9 تکثیر شد. در داخل این قطعه دو

جدول ۱- مشخصات کامل توالی آغازگرها، منطقه تکثیر، جهش مشاهده شده و اندازه آلل‌های مشاهده شده

Table 2. Detailed characteristics of primer sequence, amplified region, observed mutation and allele size

Name of the studied gene	GDF9	BMP15
Primer sequence	5'-GAAGACTGGTATGGGAAATG-3 5'-CCAATCTGCTCCTACACACCT-3	5'-CACTGTCTTCTGTTACTGTATTCAATGAC-3 5'-GATGCAATACTGCCTGCTTG-3
Amplified region	Exon1	Exon 2
Nucleotide replacement	(GCGC to GCAC) /(G > A)	(GANTC to GANTT) /(C > T)
Restriction enzyme	Hha I	HinfI
Affected amino acid replacement	Arginine > Histidine residue 87	Glutamic acid>Stop codon
Amplified product size	462	141
Observed allele size	(+/+): 52, 156, and 254 (-/-): 52 and 410 bp	(+/+): 106 and 35 (-/-) 141

جزئیات فعالیت‌های مولکولی از گزارشات منتشر شده قبلی استفاده شده است (Javanmard *et al.*, 2011). فراوانی‌های آللی و ژنتیکی و شاخص تنوع شانون با استفاده از بسته نرم‌افزاری PopGene (version 1.3) محاسبه شد (Yeh *et al.*, 1997). فایل داده‌های اولیه و همچنین نقاط مشاهده شده مربوط به گونه‌ها در فرمت CSV دانلود شده و سپس به فرمت اکسل تبدیل شد (ستون ID اضافه شد که اطلاعات مربوط به مختصات عرض جغرافیایی و طول جغرافیایی را در بر می‌گیرد). همین طور از نرم‌افزار DIVA-GIS (version 7.2.1) برای آنالیز تنوع صفات کمی هماهنگ با مختصات جغرافیایی استفاده شد (Hijmans *et al.*, 2001a). نقشه‌های شبکه‌بندی شده برای تعیین شاخص تنوع اطلاعات ژنتیکی و مورفولوژیکی با استفاده از نرم‌افزار DIVA-GIS ایجاد شد.

غلظت نهایی مواد در ۲۵ میکرولیتر حجم واکنش PCR شامل: یک واحد آنزیم Taq Polymerase، ۲۰۰ میکرومول از هر یک از dNTP، ۲۰۰ میلی مول  $MgCl_2$  و  $10\text{--}20\text{ }\mu\text{l}$  پیکامول از هر یک از پرایمرها، ۵۰-۱۰۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد بود. برای تعیین ژنتیک ہر یک از نمونه‌ها، محصولات PCR تحت تیمار آنزیم برش‌دهنده HhaI قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید ( $1\text{ mg/ml}$ ) و جهت مشاهده باندها از ژل آگارز  $1/8\%$  استفاده شد. نتایج خام حاصل وارد نرم‌افزار اکسل شد و سپس به وسیله نرم‌افزار پاپ ژن مورد تجزیه آماری و تعیین فراوانی ژنتیکی و آللی قرار گرفت. توزیع جغرافیایی چهار نژاد گوسفند در ایران در شکل ۱ نشان داده شده است. نواحی مدور در نقشه نشان‌دهنده بیشترین جمعیت برای هر نژاد می‌باشد. پروتکل

ژن کاندیدا که به طور معنی‌داری بر چندقلوزایی مؤثرند، استوار است.

DIVA-GIS می‌تواند شاخص‌های تنوع مختلفی را برای هر سلول شبکه محاسبه کند. برآورد تنوع گونه‌ها بر ارزیابی ژنتیکی چندقلوزایی و اطلاعات نشانگرهای DNA از دو

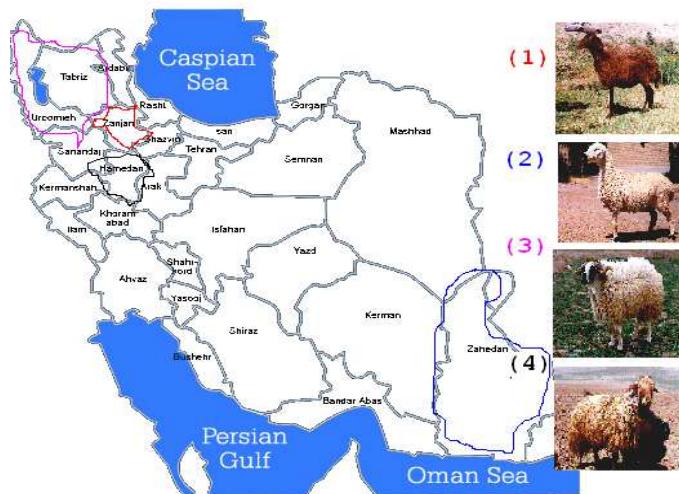


Fig. 1. Geographical distribution of four sheep breeds in Iran (1: Afsahri, 2: Baluchi 3: Makui and 4: Mehraban sheep)

شکل ۱- توزیع جغرافیایی چهار نژاد گوسفند در ایران (۱: افشاری، ۲: بلوجی ۳: ماکویی و ۴- مهربان)

هتروزیگوت برای هر دو مکان، چندقلوزایی بالاتری نسبت به ژنتیک‌های هموزیگوت نشان می‌دهند ( $P<0.01$ ). آنالیز فضایی بر اساس DIVA-GIS برای بررسی تنوع توزیع نژاد بارور گوسفند در تمام مناطق مورد مطالعه قرار گرفت. طبق نتایج اخذ شده، مناطق با بالاترین تنوع در شمال غرب ایران قرار داشتند. بیشترین شاخص تنوع باروری در نژاد گوسفندان مناطق شمال غرب ایران مشاهده شد. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود افرادی که ژنتیک GDF9 را حمل می‌کنند چندقلوزایی بیشتری نسبت به ژنتیک GG نشان می‌دهند. همچنین همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است افرادی که ژنتیک BM را حمل می‌کنند چندقلوزایی بیشتری نسبت به ژنتیک MM نشان می‌دهند. شکل‌های ۶ و ۷ به ترتیب تنوع گوسفندان برای ژن GDF9 و BMP15 را نشان می‌دهند. همان‌طور که مشاهده می‌شود مناطق کردستان و ایلام تنوع بالایی از دوقلوzaایی مربوط به ژن GDF9 را نشان دادند. از طرفی مناطق کردستان و آذربایجان غربی تنوع بالایی از دوقلوzaایی مربوط به ژن BMP15 را نشان دادند.

## نتایج و بحث

در شکل ۲ محصول حاصل از هضم ژن BMP15 با عالیم ژنتیکی و اندازه قطعات (+/+: BB ۱۰۶ bp, +/+: ۳۵ bp, -/-: MM ۱۴۱ bp, -/-: BM ۱۰۶ bp, -/-: GG ۲۵۴ bp, -/-: DD ۴۱۰ bp) و ژنتیکی (-/-: ۵۲ bp, -/-: ۲۵۴ bp, -/-: ۴۱۰ bp) می‌باشد. همچنین در شکل ۳ ژنتیک‌های مختلف ژن GDF9 به عالیم ژنتیکی و اندازه قطعات (+/+: ۵۲ bp, +/+: ۱۵۶ bp, +/+: ۲۵۴ bp, -/-: ۴۱۰ bp, -/-: ۲۵۴ bp) و ژنتیکی (-/-: ۵۲ bp, -/-: ۱۵۶ bp) می‌باشد. از سوی دیگر فراوانی‌های ژنی و ژنتیکی برای هر نژاد تعیین شدند، به طوری که در بین نژادهای مختلف متغیر بود. این فراوانی‌های آلی با داده‌های منتشر شده قبلی در دیگر نژادها قابل مقایسه است. بیشترین و کمترین فراوانی‌های آلی جهش‌یافته به ترتیب در گوسفند ماکویی (۰/۲۷) و افشاری (۰/۱۰) برای ژن BMP15 و در افشاری (۰/۲۴) و مهربان (۰/۱۸) برای ژن GDF9 بودند. چندقلوزایی به طور معنی‌داری به وسیله ژنتیک هر ژن تحت تأثیر قرار می‌گیرد و ژنتیک‌های

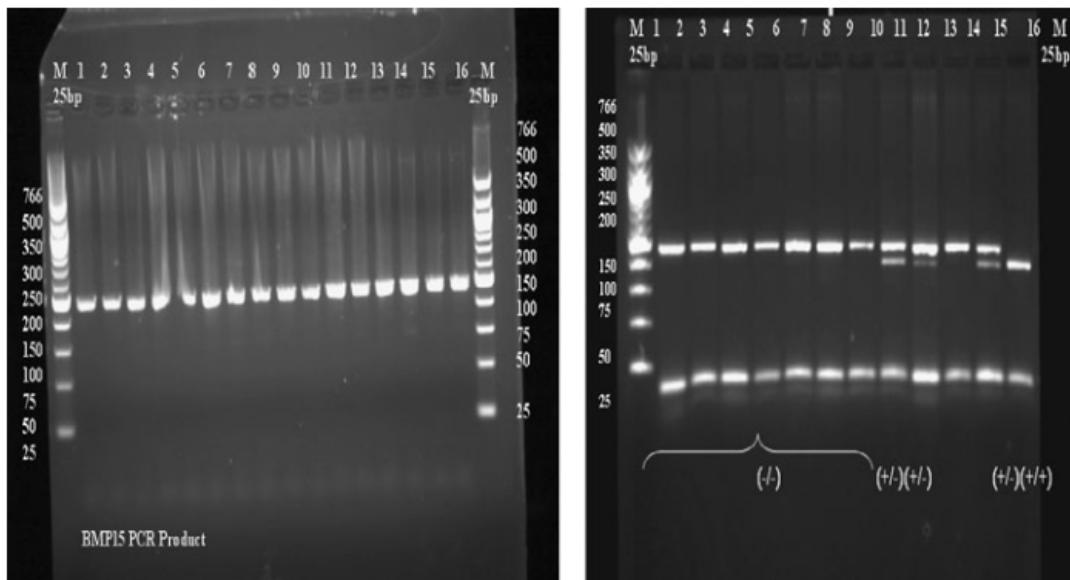


Fig. 2. RFLP patterns of PCR amplification of BMP15. Left: PCR product of BMP15 gene; right: different genotypes of BMP15 gene, (+/+): 106 and 35 bp, (-/-): 141 bp, (+/-): 141,106 and 35 bp

شکل ۲- الگوهای RFLP تکثیر PCR ژن BMP15. چپ: محصول PCR ژن BMP15 ; راست: ژنتیپ های مختلف ژن BMP15 ۱۰۶، ۳۵ و ۱۴۱ bp :BM (-/-)، ژنتیپ (+/-): ۱۴۱ bp :MM (++) و ۱۰۶، ۳۵ bp :BB (+/+)

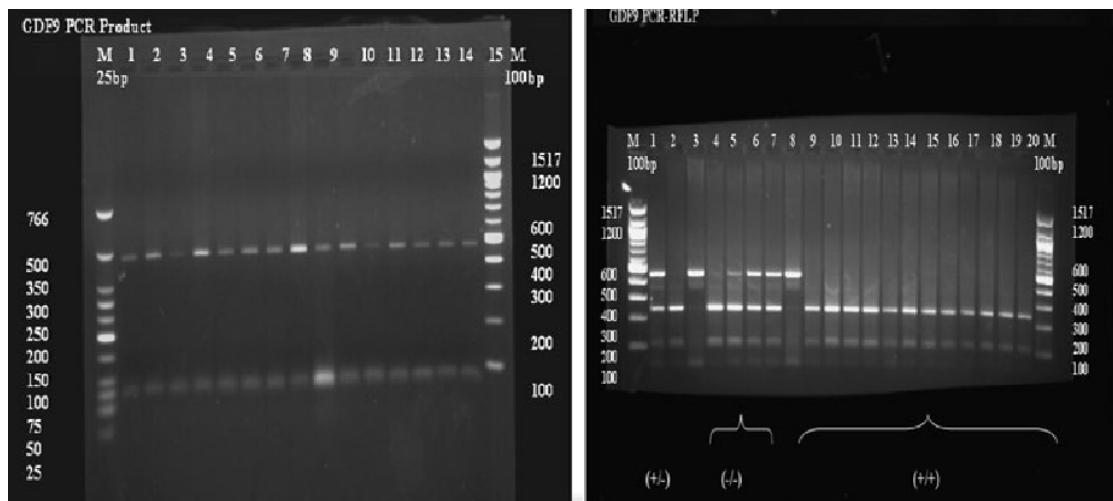


Fig. 3. RFLP patterns of PCR amplification of GDF9. Left: PCR product of GDF9 gene; right: different genotypes of GDF9 gene, (+/+): 52,156, and 245 bp, (-/-): 52 and 410 bp, (+/-): 52, 156, 254, and 410 bp

شکل ۳- الگوهای RFLP تکثیر PCR ژن GDF9. چپ: محصول PCR ژن GDF9 ; راست: ژنتیپ های مختلف ژن GDF9 ۵۲، ۱۵۶ و ۲۵۴ bp:DD(-/-) و ۴۱۰ bp:GD(+/-) و ۵۲ و ۱۵۶ ژنتیپ (+/+):GG(++)

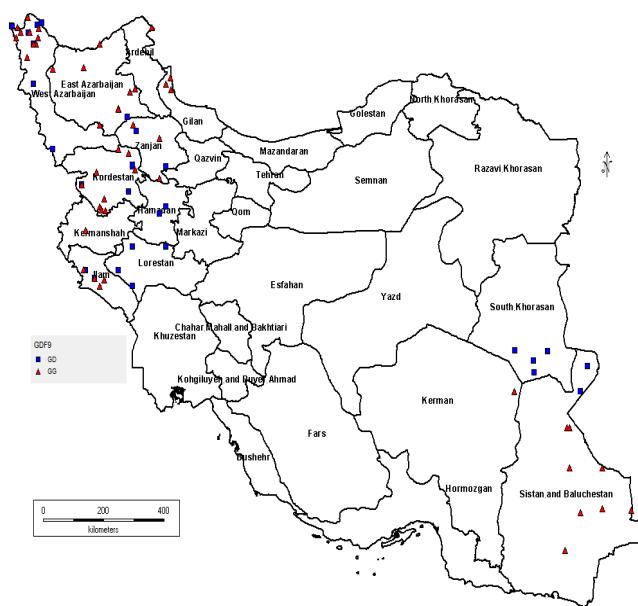


Fig. 4. Sheep breeds map based on GDF9 genotypes in Iran. The blue and red colors represent different genotypes, respectively (GD and GG)

شکل ۴- نقشه نژادهای گوسفند بر اساس ژنتیپ های GDF9 در ایران. رنگ های آبی و قرمز به ترتیب نشان دهنده ژنتیپ های مختلف می باشد (GG و GD)

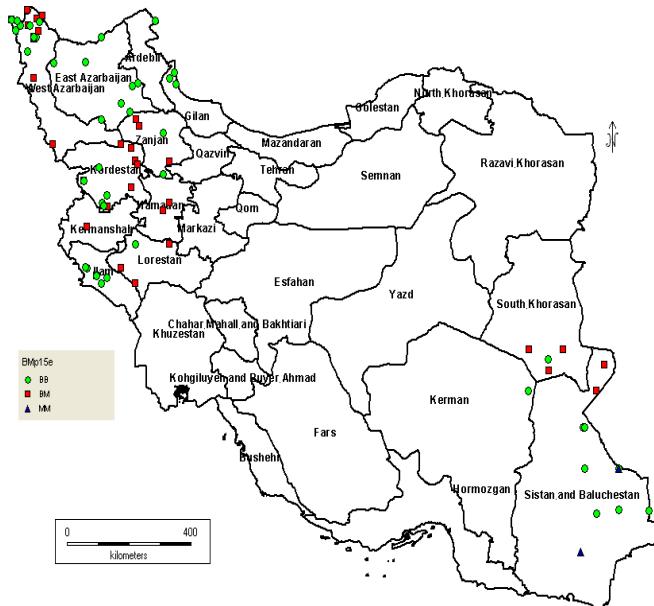


Fig. 5. Sheep breeds map based on BMP15 genotypes in Iran. The blue, green and red colors represent different genotypes (BB, MM and BM)

شکل ۵- نقشه نژادهای گوسفند بر اساس ژنتیپ های BMP15 در ایران. سیز و قرمز به ترتیب نشان دهنده ژنتیپ های مختلف می باشد (BM و MM .BB)

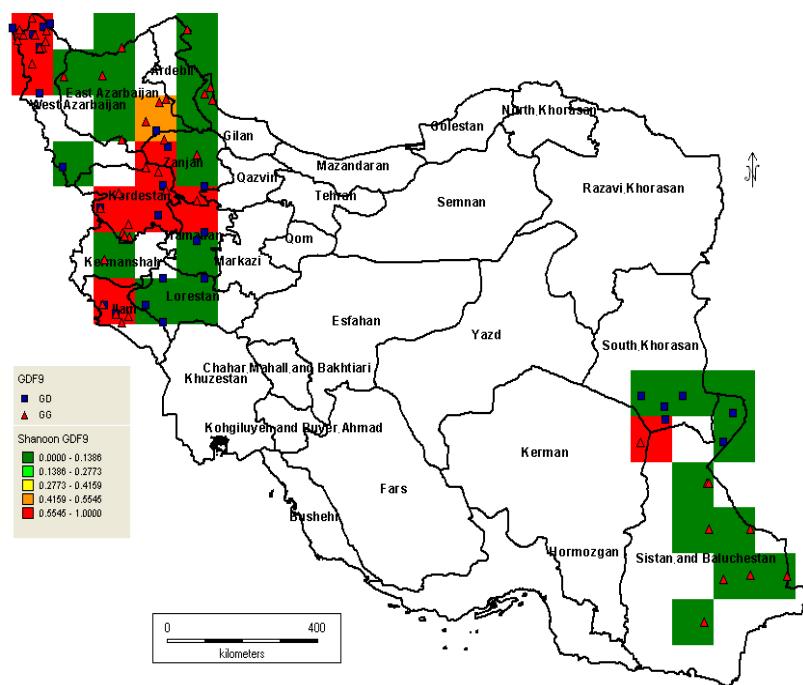


Fig. 6. Sheep diversity derived from Shannon index for GDF9 gene  
شکل ۶- تنوع گوسفند برگرفته از شاخص شانون مربوط به ژن GDF9

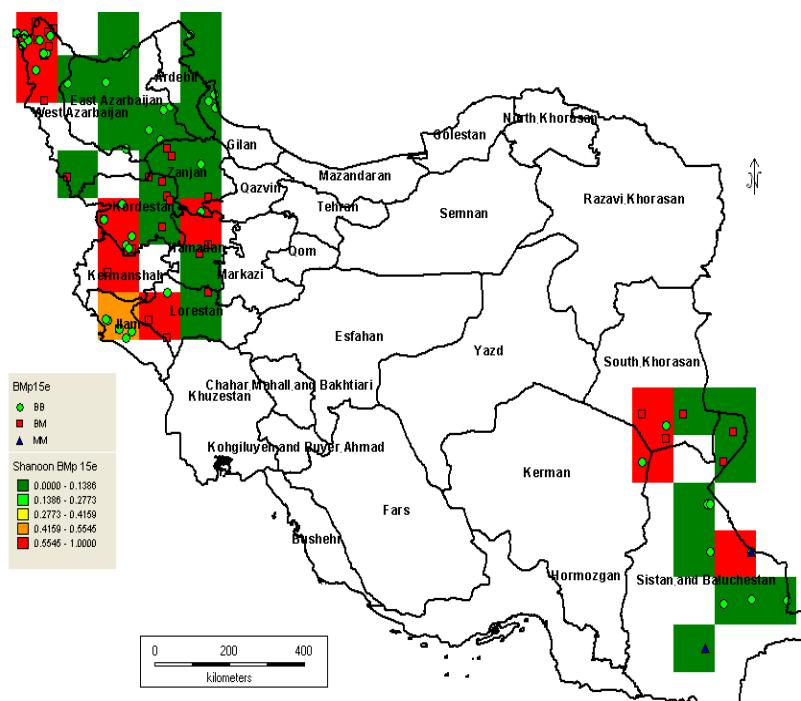


Fig. 7. Sheep diversity derived from Shannon index based on BMP15 gene  
شکل ۷- تنوع گوسفند برگرفته از شاخص شانون مربوط به ژن BMP15

تولیدمثلى به شدت به وسیله در دسترس بودن غذا در طول فصل خشک و زمان جفتگیری تحت تأثیر قرار می‌گیرد. ضعف تغذیه به کاهش آبستنی، از دست رفتن جنین و کاهش میزان برهزادی و مرگ و میر بالای میش منجر می‌شود (Yoder *et al.*, 1990).

برخی مطالعات نشان می‌دهند که شرایط محیطی و در دسترس بودن غذا بر پاسخ سوپراولاسیون در گوسفند تحت تخمک‌گذاری چندگانه تأثیر می‌گذارد (Gordon, 1997). به هر حال نژادهای گوسفند در مقایسه با آنهایی که در مناطق معتدل پرورش می‌یابند با رژیمهای تغذیه‌ای مختلف و شرایط محیطی سخت (دمای بالای محیط، کمبود غذا و آب) مواجه هستند. این محیط نامناسب بر تولیدمثلى اثر می‌گذارد و افزایش جمعیت را محدود می‌کند. همچنین این محققین نشان دادند که چنین شرایط محیطی (فصل و تغذیه) در پاسخ سوپراولاسیون گوسفند تأثیر می‌گذارد. البته در برخی از مطالعات صورت گرفته نشان داده شده است که سطوح غذای دریافتی در میزان تخمک‌گذاری در گوسفندان مناطق معتدل موثر نمی‌باشد (Rhind, 1992).

DIVA-GIS نشان داد که تنوع بالایی برای باروری بین گوسفندان بومی ایران وجود دارد. بالاترین شاخص برای باروری در نژادهای گوسفند بخش‌های شمال غرب ایران مشاهده شد. نتایج این مطالعه ممکن است ثابت کند که نژادهای گوسفند در این بخش از ایران از گوسفندان وحشی موقوفون به وجود آمده‌اند. در واقع وجود دو ایل در ایران که نام آنها از رنگ گوسفندان منشأ گرفته (Ak Aq Qoyunlu یا Koyunlu و Kara Qoyunlu یا Qara Qoyunlu) این حقیقت را ثابت می‌کند که چطور تنوع مورفو‌لولوژیکی در بین نژادهای گوسفند در منطقه آذربایجان به وسیله انسان‌ها بر جسته شده است. دلیل نامیدن این قبایل به این نامها، رنگ گله گوسفندان آنها بوده، مثلاً کلمه ترکی Aq و Qara به ترتیب به معنی سفید و سیاه است. به طور کلی این مطالعه نرمافزار DIVA-GIS را برای اهداف آنالیز تنوع گونه‌ها در همه مناطق تحقیقاتی مورد تاکید قرار می‌دهد.

درک صحیح و قابل اعتماد از گونه‌ها و واکنش‌های متقابل آنها با محیط به توصیف‌های دقیق محیط و مقیاس نقشه منطقه نیاز دارد (Cushman and McGarigal, 2004). سیستم DIVA-GIS یک فناوری جدید محسوب می‌شود که تجزیه و تحلیل بانک ژنی و پایگاه داده‌های گیاهی و جانوری را برای توصیف نمونه‌های ژنتیکی، جغرافیایی و اکولوژیکی در پراکندگی کشت و گونه‌های وحشی پوشش می‌دهد.

DIVA-GIS یک سیستم اطلاعات جغرافیایی (GIS) است و برای کمک کردن به منابع ژنتیکی گیاهی و جانوری جوامع با تلقیق کردن اطلاعات تنوع ژنتیکی و برای تشکیل نقشه بر اساس توزیع گونه‌ها در مکانی که نمونه‌برداری صورت گرفته، طراحی شده است. شاخص اطلاعات شانون، نشان می‌دهد که شاخص تنوع بالایی در شمال غرب ایران وجود دارد و تنوع نسبتاً بالا در غرب ایران یافت می‌شود. بسیاری از مناطق در آذربایجان وجود دارند که می‌تواند مورد ارزیابی قرار گیرد. اندازه شاخص شانون تنوع را مورد بررسی قرار می‌دهد به طوری که شاخص شانون نزدیک به یک نشان-دهنده هتروزیس بالا در جمعیت می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقدار بالای شاخص شانون تنوع بالا را در آن جمعیت‌ها یا نژادها نشان می‌دهد. روشن است که فراوانی گونه‌ها به شرایط اقلیمی (دما، باران، رطوبت) و ترکیب ژنتیکی نژادها که اثر معنی‌داری بر توزیع میش‌های با باروری بالا دارد وابسته است. بازدهی تولیدمثلى گوسفند به‌طور نامطلوبی به وسیله گرمایی بالا تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Thwaites, 1971; Sahani *et al.*, 1976; sawyer, 1979).

تنش گرمایی همچنین بر پاسخ سوپراولاسیون در گوسفند تأثیر می‌گذارد (Gordon, 1997). اثر بارندگی سالیانه در بسیاری از مزارع بزرگ با وضع تغذیه‌ای میش‌ها و همچنین با دوره آمادگی برای جفتگیری و طول جفتگیری مرتبط است. تغذیه می‌تواند اثر معنی‌داری بر بسیاری از جنبه‌های تولیدمثلى مثل هورمون سکرتین، باروری و رشد جنین داشته باشد (Boland *et al.*, 2001). با توجه به نتایج حاضر روشن است که نحوه توزیع گوسفندان بارور به عوامل دیگری همچون نرمی خاک و گیاه چراغاه بستگی داشته و همچنین برای تنوع تولیدمثلى گوسفندان حائز اهمیت است. عملکرد

## سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر Luigi Guarino به عنوان طراح نرم افزار DIVA-GIS و همین طور اظهار نظرهای ارزشمند ایشان سپاسگزاری می شود.

## فهرست منابع

- Armstrong D. T. and Evans G. 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goat. *Theriogenology*, 19: 31–42.
- Bindon B. M. and Piper L. R. 1986. The reproductive biology of prolific sheep breeds. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, 8: 414–451.
- Boettcher M., Tixier-Boichard M. A., Toro H., Simianer H., Eding G., Gandini S., Joost D., Garcia L. and Colli P. 2010. Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Animal Genetics*, 41: 64–77.
- Boland M. P., Lonergan P. and O'Callaghan D. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*, 55: 1323-1340.
- Booth B. D., Murphy S. D. and Swanton C. J. 2003. Weed ecology in natural and agricultural systems. CABI Publishing. 303 p.
- Cushman S. A. and McGarigal K. 2004. Hierarchical analysis of forest bird species-environment relationships in the Oregon Coast range. *Ecological Applications*, 14: 1090-1105.
- Esmailizadeh A. K., Dayani O. and Mokhtari M. S. 2009. Lambing season and fertility of fat-tailed ewes under extensive production system are associated with live weight and body condition around mating. *Animal Production Science*, 49: 1086–1092.
- Gordon I. 1997. Embryo transfer and associated techniques in sheep. In: *Controlled Reproduction in Sheep and Goats*. Cambridge University Press, Cambridge, 280-317.
- Hijmans R., Guarino L., Cruz M. and Rojas E. 2001a. Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 127: 15-19.
- Hijmans R. J., Cruz M., Rojas E. and Guarino L. 2001b. DIVA-GIS, version 1.4. A geographic information system for the analysis of biodiversity data. Manual. International Potato Center, Lima, Peru.
- Javanmard A., Azadzadeh N. and Esmailizadeh A. K. 2011. Mutations in bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 genes are associated with increased litter size in fat-tailed sheep breeds. *Veterinary Research Communications*, 35(3): 157-167.
- Osman A. H. 1987. Near East Sheep Breeding and Improvement. World Animal Review, 54. FAO, Rome Italy.
- Rhind S. M. 1992. Nutrition: its effects on reproductive performance and its hormonal control in female sheep and goats. In: Speedy, A.W. (Ed.), *Progress in sheep and goat research*. CAB International, Oxford, 25–51.
- Sahani K. L., Tiwari S. B. and Sahani M. S. 1976. Effect of season on the occurrence of oestrus and fertility in different breed of sheep under semi arid condition. *Indian Veterinary Journal*, 53: 515–522.
- Sawyer G. J. 1979. The influence to radiant heat load in Merino ewes. II. The relative effects of heating before and after insemination. *Australian Journal of Agricultural Research*, 30: 1143–1149.
- Souza C. J. H., MacDougall C., Campbell B. K. and McNeilly A. S. 2001. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1B (BMPR1B) gene. *Journal of Endocrinology*, 169: R1–R6.
- Tavakolian J. 2000. An Introduction to Genetic Resources of Native Farm Animals in Iran. Animal Science Genetic Research Institute Press, Tehran, Iran (in Persian).
- Thwaites C. J. 1971. Short term heat stress and embryo mortality in the sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 11: 265–267
- Yeh F. C., Yang R. C., Boyle T. B. J., Ye Z. H. and Mao J. X. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for populationgenetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Alberta.
- Yoder R. A. , Hudgens R. E., Perry T. W., Johnson K. D. and Deikman M. A. 1990. Growth and reproductive performance of ewe lambs fed corn or soybean meal while grazing pasture. *Journal of Animal Science*, 68: 21-27.

## Investigation on prolificacy variation in four sheep populations from Iranian nomads using joint information of phenotypes, DNA markers and geographic information system

**L. Ali Talesh<sup>1</sup>, A. Javanmard<sup>2</sup>, M. Madad<sup>3</sup>, N. Ghavi Hosseini-Zadeh<sup>4\*</sup>, M. R. Shabani Mofrad<sup>5</sup>**

1. Graduated MSc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran
2. Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Tabriz
3. Young Researchers and Elite Club, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan
5. Ph.D. student, Department of plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Putra, Serdang, Malaysia

(Received: 1-3-2014 – Accepted: 2-12-2014)

### Abstract

The genetic diversity of the world's livestock populations is decreasing, both within and across breeds. The conservation of livestock genetic variability is thus important, especially when considering possible future changes in production environments. Current research focuses on GIS analysis of the sheep diversity based on fecundity and DNA markers of four sheep breeds over Iran. A total of 97 mature ewes (Afshari=19; Baluchi=18; Makui=30 and Mehraban=30) collected with known single or twin lambings from different locations of Iran to assess genetic diversity of fecundity using morphology, DNA information analysis and DIVA-geographic information system (GIS). Polymorphism of two GDF9 and BMP15 candidate genes was investigated using PCR-RFLP. Litter size was significantly influenced by genotype of each gene, and heterozygous genotypes for both loci showed higher litter size than the homozygous genotypes ( $P<0.01$ ). According to the obtained results, the regions that are richest in diversity located in North West of Iran. DIVA-GIS showed the highest diversity index for fecundity between Iranian indigenous sheep. The highest diversity index for fecundity was observed in the sheep breed from North West parts of Iran.

**Keywords:** Genetic variation, Prolificacy, Geographic information system, Fat-tailed sheep, DNA marker

\*Corresponding author: nhosseinzadeh@guilan.ac.ir